

AKTIVITAS HEPATOPROTEKTIF MADU TERHADAP HEPAR DAN PERUBAHAN BERAT BADAN MENCIT YANG DIINDUKSI ALKOHOL

NUR AINI HIDAYAH KHASANAH¹, FAJAR HUSEN^{2*}

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bina Cipta Husada Purwokerto¹, Program Studi Doktor Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada²
Email: fajarhusen1995@mail.ugm.ac.id^{2*}

Abstract: *Alcohol exposure can cause liver damage through oxidative stress, fat accumulation, inflammation, and cell degeneration. Honey is known to contain antioxidants that have the potential to provide a protective effect against hepatic damage. This study aims to determine the protective effect of Tresnojoyo honey on body weight, liver-to-body weight ratio, and histopathological findings in the livers of mice (*Mus musculus*) induced with 70% alcohol. This experimental study used a completely randomized design (CRD) with 3 treatments and 8 replicates. The treatments were control, 70% alcohol (0.5 mL/day), and 70% alcohol with added honey (0.25 mL/day) for 10 days. The parameters observed included changes in body weight, liver weight to body weight ratio, and histological lesions (steatosis, hepatocyte degeneration, inflammation, and congestion). The results showed that all treatment groups experienced weight gain ($p,0.05$), with no significant difference in liver weight ratio. The control group showed normal histological findings. The 70% alcohol group showed heavy statocytes, hepatocyte degeneration, inflammation, and congestion. Administration of Tresnojoyo honey to the alcohol group reduced the degree of inflammation and cell degeneration, although it did not completely eliminate hepatic injury. It was concluded that Tresnojoyo honey has hepatoprotective potential due to alcohol exposure, by maintaining body weight and reducing histopathological changes in the liver.*

Abstrak: Paparan alkohol dapat menimbulkan kerusakan hati melalui mekanisme stres oksidatif, akumulasi lemak, inflamasi dan degenerasi sel. Madu diketahui mengandung antioksidan yang berpotensi memberikan efek protektif terhadap kerusakan hepatis. Penelitian ini bertujuan mengetahui efek proteksi madu Tresnojoyo terhadap berat badan, rasio berat hepar terhadap berat tubuh, serta gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi alkohol 70%. Penelitian eksperimental ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 3 perlakuan dengan 8 ulangan. Perlakuan berupa kontrol, alkohol 70% (0.5 mL/hari), dan alkohol 70% dengan penambahan madu (0.25 mL/hari), selama 10 hari. Parameter yang diamati meliputi perubahan berat badan, rasio berat hepar terhadap berat tubuh, serta lesi lesi histologis (steatosis, degenerasi hepatosit, inflamasi dan kongesti). Hasil menunjukkan semua kelompok perlakuan mengalami peningkatan berat badan ($p,0.05$), dengan rasio berat hepar tidak berbeda signifikan. Kelompok kontrol menunjukkan gambaran histologis normal. Kelompok alkohol 70% menunjukkan stosis berat, degenerasi hepatosit, inflamasi dan kongesti. Pemberian madu Tresnojoyo pada kelompok alkohol mampu menurunkan derajat inflamasi serta degenerasi sel, meskipun tidak sepenuhnya menghilangkan cedera hepatis. Disimpulkan bahwa madu Tresnojoyo memiliki potensi hepatoprotektif akibat paparan alkohol, dengan menjaga kondisi berat badan dan mengurangi perubahan histopatologis hati.

A. Pendahuluan

Hati merupakan organ vital yang berperan penting dalam metabolisme, detoksifikasi dan penyimpanan berbagai zat penting. Gangguan struktur atau fungsi hati yang disebabkan oleh kerusakan sel hepatosit dapat menimbulkan berbagai penyakit seperti hepatitis, perlemakan hati, sirosis hepatis, kanker hati dan gagal hati. Salah satu pemicu kerusakan hati adalah konsumsi alkohol. Alkohol dimetabolisme di hati menjadi asetaldehid, suatu senyawa toksik yang dapat memicu stres oksidatif dan peroksidasi lipid, sehingga merusak membran sel hati serta mengganggu fungsi hepatosit (Pranoto & Nugrahalia, 2020).

Berdasarkan Risesdas 2018, prevalensi konsumsi alkohol di Indonesia sebesar 3.3%, lebih rendah dibandingkan rata-rata dunia maupun kawasan Asia Pasifik dan Asia Tenggara. Meskipun demikian, konsumsi alkohol tetap perlu diwaspadai karena paparan dalam jumlah

kecil namun rutin dapat menimbulkan kerusakan organ, terutama hati sebagai jalur utama metabolisme etanol. Beberapa studi menunjukkan bahwa dosis kecil, antara 12–24 g per hari meningkatkan risiko sirosis dibandingkan dengan orang yang tidak mengonsumsi alkohol (Duki et al., 2023). Konsumsi alkohol secara kronis terbukti mengganggu metabolisme lipid dan pengaturan glukosa darah. Kondisi ini dapat memicu obesitas, sindrom metabolik dan berbagai penyakit lainnya. Hal ini dipengaruhi oleh frekuensi, durasi dan intensitas konsumsi alkohol, dengan konsumsi kronis dan berlebihan menimbulkan risiko yang lebih besar (Genchi et al., 2024). Hayatillah et al. (2022) meneliti dampak konsumsi alkohol terhadap kondisi hepar pada paparan subkronik serta pengaruhnya terhadap keseimbangan tubuh mencit (*Mus musculus*) menunjukkan bahwa paparan alkohol subkronis mampu menimbulkan perubahan patologis pada hepar sekaligus mempengaruhi keseimbangan tubuh hewan uji. Upaya untuk mencegah atau meminimalkan kerusakan hati akibat alkohol dapat dilakukan dengan pemberian zat alami yang memiliki aktivitas antioksidan.

Madu merupakan produk alami yang dihasilkan oleh lebah madu dari nektar atau sekresi yang awalnya dikumpulkan dari tanaman berbunga. Madu memiliki komponen utama sakarida (80-85%), air (15-17%), protein (0.1-0.4%), enzim, vitamin, mineral dan senyawa fenolik (Palma-Morales et al., 2023). Madu memiliki banyak manfaat yang sudah banyak diketahui yaitu antimikroba, anti-kardiovaskuler, antikanker, antidiabetes (Ayoub et al., 2017). Studi *in vivo* menunjukkan bahwa madu meningkatkan aktivitas antioksidan serum dengan memperbaiki pertahanan terhadap stress oksidatif. Linawati (2018) membuktikan bahwa madu hutan memiliki efek hepatoprotektif terhadap tikus Wistar betina yang diinduksi 2.0 mL/kgBB karbon tetraklorida dengan dosis 3.6, 5.4 dan 8.1 mL/kgBB. Zhao et al. (2017) menunjukkan bahwa madu *Apis cerana* dari wilayah Qinling Mountains mampu mencegah kerusakan hati mencit yang diinduksi alkohol melalui mekanisme antioksidan. Beberapa penelitian tersebut membuktikan bahwa madu memiliki efek hepatoprotektif terhadap toksisitas yang disebabkan oleh bahan kimia atau obat, namun kajian mengenai efek proteksi madu terhadap kerusakan hati akibat induksi alkohol masih terbatas.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh madu terhadap berat badan, rasio berat hepar terhadap berat tubuh, serta gambaran histopatologi hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi alkohol. Selain itu penelitian ini juga bertujuan untuk menilai potensi madu dalam memberikan efek protektif terhadap kerusakan hepar. Madu yang digunakan adalah madu merek Tresnojoyo, yang dipilih untuk mewakili madu komersial yang banyak beredar di pasaran dan telah memiliki merek dagang resmi. Pemilihan madu ini untuk melihat efek madu secara umum yang dikonsumsi masyarakat terhadap kerusakan hati akibat induksi alkohol. Pada penelitian ini digunakan alkohol dengan konsentrasi 70%, yang sering digunakan dalam penelitian hewan coba karena pada kadar tersebut mampu menimbulkan efek toksik terhadap hati tanpa menyebabkan kematian hewan secara cepat.

B. Metode

Desain, tempat dan waktu

Penelitian eksperimental ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 3 perlakuan dengan 8 ulangan. Perhitungan besar sampel mengacu pada rumus Federer yaitu: $(t-1)(n-1) \geq 15$, dengan t: jumlah kelompok perlakuan dan r: besar sampel tiap kelompok. Adapun perlakuan yang diujikan adalah alkohol 70% dan madu dengan jumlah berbeda. Pembagian kelompok percobaan yaitu: kelompok kontrol (tidak diberi alkohol dan madu), kelompok 1 (alkohol 70% = 0.5 mL), kelompok 2 (alkohol 70% 0.5 ml + madu 0.25 ml). Penelitian dilakukan di laboratorium Sitohistoteknologi STIKes Bina Cipta Husada Purwokerto dan laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto pada bulan April hingga Mei 2025.

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan meliputi: 24 ekor mencit (*Mus musculus*) galur Balb-C, sekam, pakan mencit, alkohol 70%, madu Tresnojoyo, aquades, NBF 10%, alkohol 80%, 90%, 95%, parafin, hematoxylin, eosin, xylol, entelan. Alat yang digunakan terdiri dari: kandang tikus, tempat minum, baki, *styrofoam*, jarum pentul, satu set alat bedah, sonde, timbangan hewan,

beaker glass, gelas ukur, spatula, batang pengaduk, pinset, termometer ruangan, waterbath, mikrotom, mikroskop, *staining jar*, *object glass*, *cover glass*, *cassete*, *base mold*, box preparat.

Langkah-Langkah Penelitian

1. Aklimatisasi dan Pemeliharaan Hewan Coba

Sebelum diinduksi alkohol 70%, hewan coba terlebih dahulu menjalani proses aklimatisasi selama tujuh hari di Laboratorium Patologi Anatomi STIKes Bina Cipta Husada Purwokerto. Selama masa aklimatisasi, hewan diberi pakan dan minum secara *ad libitum* menggunakan pelet dan aquades steril sebagai sumber air minum untuk memastikan bebas dari bakteri dan mikroorganisme lain. Pemberian pakan dilakukan dua kali sehari yaitu pada pukul 08.00 dan 15.00. Kandang hewan coba dijaga kebersihannya dengan penggantian sekam setiap tiga hari sekali. Kondisi lingkungan dipertahankan pada suhu 28-30°C dan kelembaban 65-75%, dengan paparan cahaya matahari atau lampu selama delapan jam per hari. Selama tahapan pemeliharaan, mulai dari aklimatisasi hingga percobaan dan terminasi.

2. Kriteria Inklusi dan Eksklusi Hewan Coba

Selama pemilihan hewan coba, dilakukan proses seleksi berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Adapun kriteria inklusi pada penelitian ini meliputi mencit jantan berusia sekitar tiga bulan dengan berat badan lebih dari 20 gram, dalam kondisi sehat yang ditandai dengan perilaku normal selama masa aklimatisasi seperti aktif bergerak, mengerat serta makan teratur. Selain itu mencit yang digunakan berasal dari galur Balb/c dan tidak memiliki mutasi genetik. Sementara itu, kriteria eksklusi mencakup mencit yang sakit, memiliki aktivitas fisik rendah, cacat tubuh, berjenis kelamin betina, atau menunjukkan tanda stres seperti sering berkelahi.

3. Induksi Alkohol 70%

Sebelum induksi alkohol 70% dilakukan, mencit terlebih dahulu dipuaskan selama 5-8 jam tanpa makan. Induksi dilakukan per oral menggunakan sonde lambung. Sebanyak 0.5 mL alkohol 70% diberikan kepada masing-masing hewan coba, kecuali kelompok kontrol. Segera setelah proses sonde, makanan diberikan kepada hewan coba untuk memastikan tikus tidak mati karena kelaparan. Proses sonde alkohol dilakukan selama 10 hari, yang dilakukan pada pagi hari pukul 08.00.

4. Pemberian Perlakuan [Madu]

Dua jam setelah sonde alkohol, dilanjutkan dengan pemberian madu melalui sonde lambung sebanyak 0.25 mL.

5. Terminasi dan Pembedahan Hewan Coba

Hewan coba diterminasi pada hari ke-11 setelah perlakuan. Proses terminasi dilakukan secara bertahap untuk meminimalisir rasa sakit. Terlebih dahulu mencit dimasukkan ke dalam toples yang berisi kapas yang telah ditetesi dietil eter secukupnya. Ditunggu hingga mencit kehilangan kesadaran. Setelah mencit tidak bergerak dan tidak responsif terhadap rangsangan, dilakukan terminasi dengan dislokasi leher secara cepat dan benar. Mencit diletakkan terlentang di atas styrofoam. Kedua kaki depan dan belakang dijepit menggunakan jarum pentul agar tubuh stabil selama pembedahan. Area abdomen dibersihkan menggunakan alkohol 70% untuk mencegah kontaminasi pada organ. Dibuat insisi di bagian bawah abdomen dengan cara kulit diangkat menggunakan pinset kemudian dibuat insisi sekitar 1 cm menggunakan gunting. Kulit diangkat perlahan ke arah kepala dan ekor, kemudian dibedah mengikuti garis abdomen sehingga membuka kulit lebih luas. Setelah kulit terbuka, lakukan insisi pada dinding perut secara hati-hati, dimulai dari linea alba (garis tengah perut) kemudian diperluas secara horizontal hingga terlihat organ hepar. Hepar diangkat dengan hati-hati secara perlahan menggunakan pinset.

6. Penimbangan Organ

Segera setelah organ hepar diangkat, hati diletakkan di atas kain kasa steril untuk meniriskan organ, kemudian ditimbang menggunakan timbangan analitik.

7. Pembuatan Preparat Histologi Hepar

Sampel berupa organ hepar yang sudah ditimbang selanjutnya difiksasi menggunakan larutan Neutral Buffer Formalin (NBF) 10% selama 24 jam. Selanjutnya sampel masuk ke

dalam tahap *washing* dengan cara dipindahkan ke dalam wadah berisi alkohol 70%. Tahapan selanjutnya dalam pembuatan preparat histologi yaitu *dehidrasi, blocking, infiltrasi, clearing, sectioning, affixing, deparafinisasi, staining, mounting* dan *labelling*, mengacu pada Kiernan (2015).

8. Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE)

Preparat sayatan melintang hepar mencit yang telah ditempel pada object glass terlebih dahulu dicelupkan ke dalam staining jar berisi hematoxylin selama 30 detik, kemudian dicelupkan dalam aquades. Setelah itu, slide dimasukkan ke dalam rangkaian alkohol bertingkat mulai dari konsentrasi rendah ke tinggi (70%, 80%, 90% dan 95%). Selanjutnya slide dimasukkan ke dalam eosin selama 15 menit, lalu dimasukkan kembali ke dalam aquades. Tahap berikutnya adalah deparafinisasi, dilakukan menggunakan alkohol bertingkat dari konsentrasi tinggi menuju konsentrasi rendah.

9. Evaluasi Histopatologi Hepar

Preparat histologi hepar kemudian diamati menggunakan mikroskop perbesaran 100x dan 400x untuk menilai adanya steatosis, degenerasi, inflamasi dan kongesti. Skor histopatologi dilakukan secara semi kuantitatif yaitu menggunakan skala 0–3, dimana 0 = tidak ada, 1 = ringan, 2 = sedang, 3 = berat

Pengolahan dan analisis data

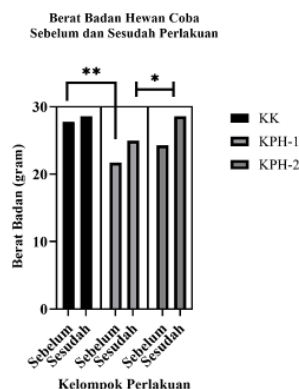
Data berat badan sebelum dan sesudah perlakuan serta rasio berat hepar terhadap berat badan dianalisis secara deskriptif dan statistik. Analisis deskriptif disajikan dalam bentuk Gambar untuk menggambarkan rerata serta perubahan antar kelompok, gambar serta skoring hasil pengamatan mikroskopis. Analisis statistik diolah menggunakan SPSS versi 26.

Analisis statistik berat badan sebelum dan sesudah perlakuan digunakan uji T berpasangan, setelah memenuhi asumsi normalitas. Sedangkan untuk mengetahui rasio berat hepar terhadap berat badan antar tiga kelompok perlakuan, data terlebih dahulu diuji normalitas menggunakan uji *Saphiro Wilk*, dan homogenitas menggunakan uji *Levene*. Jika data normal dan homogen, maka digunakan uji *One Way ANOVA*. Jika hasilnya menunjukkan perbedaan bermakna maka dilanjutkan dengan uji *post Hoc Tukey-HSD* untuk menentukan kelompok mana yang berbeda signifikan.

C. Hasil dan Pembahasan

Hasil

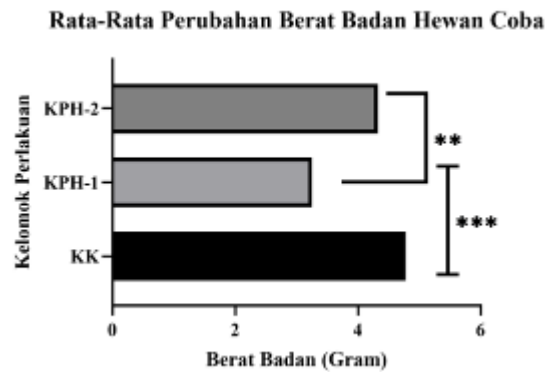
Parameter berat badan mencit ditimbang sebelum dan sesudah penelitian. Secara umum didapatkan gambaran rata-rata berat badan mencit yang hampir sama meningkat. Untuk menilai apakah berat badan sebelum dan sesudah perlakuan berbeda secara statistik maka dilakukan uji menggunakan Uji T berpasangan SPSS 26. Gambaran berat badan mencit yang diperoleh disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Berat Badan Mencit Sebelum dan Sesudah Perlakuan Selama 10 Hari pada (KK) kelompok kontrol, (KPH-1) kelompok perlakuan alkohol 70% tanpa madu, (KPH-2) kelompok perlakuan alkohol dengan madu 0.25 mL

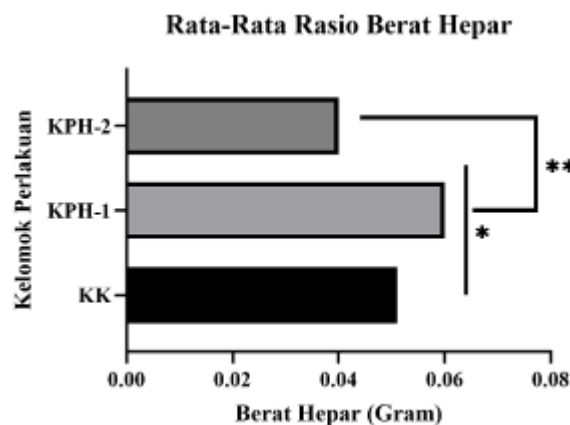
Gambar 1. menunjukkan bahwa berat badan mencit setelah 15 hari perlakuan menunjukkan peningkatan pada semua kelompok perlakuan. Data berat badan memenuhi asumsi normalitas sehingga analisis perbandingan sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok dilakukan menggunakan uji T berpasangan. Hasil analisis menunjukkan bahwa kelompok kontrol (mencit sehat) mengalami peningkatan berat badan yang signifikan ($p=0.022$). Kelompok alkohol juga menunjukkan peningkatan yang signifikan ($p=0.026$). Hal serupa didapati pada kelompok alkohol dengan penambahan madu 0.25 mL, dimana menunjukkan perubahan signifikan ($p=0.051$).

Perubahan berat badan sesudah dan sebelum dihitung untuk setiap hewan coba dan diuji antar-kelompok. Diperoleh rata-rata peningkatan berat badan sebagai berikut:



Gambar 2. Rata-Rata Peningkatan Berat Badan Mencit Antar Perlakuan (KK) kelompok kontrol, (KPH-1) kelompok perlakuan alkohol 70% tanpa madu, (KPH-2) kelompok perlakuan alkohol dengan madu 0.25 mL

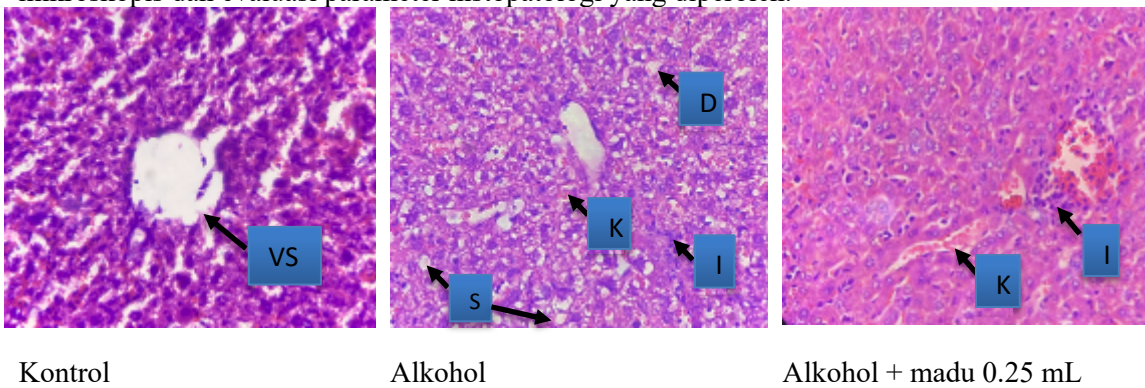
Gambar 2. memperlihatkan secara deskriptif rata-rata peningkatan berat badan paling sedikit didapati pada kelompok perlakuan alkohol, diikuti kelompok alkohol + madu, kemudian kelompok kontrol menunjukkan peningkatan tertinggi. Hasil uji normalitas *Saphiro Wilk* didapat nilai p masing-masing kelompok secara berurutan = 0.060, 0.064, 0.710. Hasil uji homogenitas Levene diperoleh $p=0.80$. Selanjutnya perbedaan peningkatan antar ketiga kelompok diuji menggunakan *One-way ANOVA*, dan diperoleh nilai $p=0.624$. Hal ini menunjukkan peningkatan berat badan pada ketiga kelompok perlakuan tidak bermakna secara statistik atau peningkatan berat badan tersebut relatif sama.



Gambar 3. Rata-rata Rasio Berat Hepar Mencit Terhadap Berat Badan Setelah Perlakuan Selama 10 Hari pada (KK) kelompok kontrol, (KPH-1) kelompok perlakuan alkohol 70% tanpa madu, (KPH-2) kelompok perlakuan alkohol dengan madu 0.25 mL

Gambar 3 secara deskriptif menunjukkan bahwa kelompok alkohol memiliki rata-rata rasio berat hepar yang lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol dan kelompok alkohol + madu. Untuk mengetahui apakah perbedaan tersebut signifikan, selanjutnya data diolah secara statistik. Uji normalitas *Saphiro Wilk* menunjukkan data berdistribusi normal (p masing-masing=0.946, 0.922, 0.514). Uji *Levene* menunjukkan bahwa rasio berat hepar terhadap berat tubuh tiap perlakuan adalah homogen ($p=0.942$), dan memenuhi asumsi untuk dilakukan uji *One-Way ANOVA*. Hasil uji *One-Way ANOVA* menunjukkan bahwa tidak ditemukan perbedaan yang signifikan pada rasio berat hepar terhadap berat tubuh antar ketiga kelompok perlakuan ($p = 0.690$). Perbedaan antar kelompok perlakuan tersebut tidak bermakna secara statistik.

Hasil pemeriksaan histopatologi hepar mencit pada minggu ke-11 menunjukkan bahwa tampak perubahan yang nyata pada tiap kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol tidak mengalami steatosis, degenerasi, inflamasi dan kongesti, sedangkan pada kelompok yang mendapat perlakuan alkohol tanpa madu tampak mengalami steatosis, degenerasi hepatosit dan kongesti berat, dan tampak sel mengalami inflamasi sedang. Kelompok perlakuan alkohol dengan penambahan madu tidak menunjukkan adanya steatosis, dengan sedikit degenerasi hepatosit dan inflamasi ringan di dekat sinusoid, serta kongesti ringan yang ditandai dengan pelebaran sinusoid berisi sel-sel polimorfonuklear (PMN). Berikut hasil pengamatan mikroskopis dan evaluasi parameter histopatologi yang diperoleh.



Gambar 1. Struktur Histologi Hepar Mencit pada Tiap Kelompok Perlakuan (pewarnaan HE, perbesaran 40x, gambar yang ditampilkan mewakili 8 sampel. Keterangan: VS: Vena Sentralis, S: Steatosis, D: Degenerasi, I: Inflamasi, K: Kongesti)

Tabel 1. Hasil Evaluasi Parameter Histopatologi Mencit pada Tiap Kelompok Perlakuan

Perlakuan	Steatosis	Degenerasi	Inflamasi	Kongesti	Tingkat Kerusakan
KK	0	0-1	0	0-1	normal
KPH-1	3	3	2	3	berat
KPH-2	0-1	1-2	1	2	ringan-sedang

Keterangan: (KK) kelompok kontrol, (KPH-1) kelompok perlakuan alkohol 70% tanpa madu, (KPH-2) kelompok perlakuan alkohol dengan madu 0.25 mL

Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa seluruh kelompok perlakuan mengalami peningkatan berat badan setelah 10 hari perlakuan (Grafik 1). Peningkatan ini terjadi baik pada kelompok kontrol, kelompok dengan paparan alkohol 70% 0.5 mL, maupun kelompok alkohol yang diberi penambahan madu 0.25 mL. Kelompok kontrol menunjukkan peningkatan berat badan yang signifikan ($p=0.022$). Hal ini sejalan dengan kondisi fisiologis hewan normal, dimana mencit cenderung mengalami penambahan berat badan seiring berjalannya waktu akibat proses pertumbuhan, metabolisme dan asupan nutrisi yang stabil.

Kelompok yang diberi alkohol 70% juga mengalami peningkatan berat badan yang signifikan ($p=0.051$). Alkohol pada konsentrasi tersebut umumnya bersifat toksik terhadap organ tertentu seperti hati, namun efeknya terhadap berat badan kurang terlihat pada paparan jangka pendek. Peningkatan berat badan pada kelompok ini menunjukkan bahwa durasi paparan 10 hari belum cukup menimbulkan gangguan metabolik atau anoreksia yang biasanya berhubungan dengan toksisitas alkohol kronik. Hasil ini sejalan dengan (Hayatillah et al., 2022) dimana perlakuan alkohol sub kronik meningkatkan berat badan mencit setiap minggu. Dikemukakan bahwa alkohol mengandung kalori yang tinggi sehingga masuknya alkohol ke dalam tubuh menyebabkan penambahan massa tubuh mencit. Beberapa studi menunjukkan bahwa konsumsi alkohol dapat mengganggu regulasi hormon seperti vasopresin yang dapat mengubah keseimbangan cairan, meningkatkan rasa haus dan lapar, menyebabkan retensi cairan sementara sehingga mengakibatkan peningkatan berat badan semu (Genchi et al., 2024). Hal ini juga dapat menjadi penyebab berat badan masih meningkat meskipun paparan bersifat toksik. Namun berat badan pada kelompok perlakuan alkohol 70% ini paling sedikit mengalami peningkatan dibandingkan kelompok lain (Grafik 2), meskipun tidak berbeda signifikan yaitu rata-rata sebesar 3.25 gram.

Pada kelompok alkohol dengan penambahan 0.25 mL madu juga mengalami peningkatan berat badan signifikan ($p=0.026$). Menurut Ayoub et al. (2017) madu mengandung karbohidrat sederhana, vitamin, mineral serta komponen antioksidan, yang dapat membantu mengurangi stres oksidatif akibat paparan alkohol. Peningkatan berat badan pada kelompok ini dapat mengindikasikan bahwa madu memberikan efek protektif terhadap gangguan metabolik akibat induksi alkohol. Sistem pencernaan dan metabolisme energi masih berada dalam kondisi lebih stabil dibandingkan kelompok yang hanya menerima alkohol.

Penelitian ini juga mendapati bahwa rasio berat hepar dibandingkan berat tubuh pada ketiga kelompok perlakuan tidak berbeda signifikan (Grafik 3), meskipun secara deskriptif terlihat rasio berat hepar dibandingkan berat tubuh pada kelompok perlakuan alkohol 70% cenderung paling tinggi dibandingkan kelompok lain. Hepar dapat meningkat beratnya karena adanya kenaikan trigliserida hati yang berkorelasi dengan berat hati karena akumulasi lipid. Studi yang dilakukan oleh (Arumugam et al., 2022) membuktikan paparan alkohol akut dengan dosis 6 gram/kg bb dengan pemberian 2 kali dalam 12 jam menyebabkan kenaikan trigliserida hati lebih dari tiga kali lipat pada tikus, 8 jam setelah pemberian.

Hasil evaluasi histopatologi pada hari ke-11 pada kelompok kontrol terlihat bahwa jaringan hepar mencit berada dalam kondisi normal, tidak ditemukan tanda steatosis, degenerasi, inflamasi maupun kongesti. Hasil ini menunjukkan bahwa hewan kontrol tetap terjaga kesehatannya selama periode penelitian. Struktur normal hepatosit dan jaringan lobular pada mencit ini sejalan dengan penelitian lain, dimana kelompok kontrol umumnya memiliki lesi minimal. Penelitian (Khasanah & Husen, 2024) mengemukakan bahwa kelompok kontrol yang tidak diinduksi Karbon Tertraklorida (CCl_4) menunjukkan struktur penyusun sel hati yang relatif normal, dimana terdapat lobulus-lobulus hati dengan vena sentralis di tengah, dengan sel-sel hepatosit tersusun radial mengelilingi vena sentralis dan ukuran celah sinusoid tidak membesar, serupa dengan yang terlihat pada Gambar 1.

Pada kelompok induksi alkohol 70% menunjukkan steatosis berat. Banyaknya steatosis pada jaringan hepar menunjukkan terjadinya akumulasi lemak di dalam hepatosit. Kondisi ini umumnya menyebabkan peningkatan berat hepar karena sel hepar mengalami pembengkakan akibat penumpukan lemak. Namun peningkatan berat hepar ini tidak selalu diikuti peningkatan berat badan mencit karena steatosis bersifat lokal pada organ dan tidak selalu mencerminkan status energi sistemik (Sánchez et al., 2024). Demikian pula, tidak terdeteksinya infiltrasi sel radang atau kongesti menunjukkan bahwa tidak ada respons inflamasi atau akumulasi cairan di sinusoid hepar hewan kontrol.

Degenerasi hepatosit yang terlihat pada kelompok perlakuan alkohol 70% menandakan adanya gangguan struktur dan fungsi sel hepar akibat paparan alkohol. Degenerasi sel ditunjukkan dengan adanya pembengkakan (*hydrophic degeneration*), vakuolisasi sitoplasma serta perubahan inti sel merupakan respons awal hepatosit terhadap stres akibat senyawa toksik. Hasil penelitian ini sejalan dengan (Sijid et al., 2020) dimana pemberian tuak yang mengandung alkohol dengan dosis berbeda memberikan pengaruh terhadap gambaran

histopatologi mencit jantan *Mus musculus* secara bertingkat dari dosis yang diujikan yaitu 0; 0,1; 0,2 dan 0,3 mL/hari/ekor memberikan gambaran berupa dilatasi sinusoid, radang, kongesti, degenerasi lemak dan egenerasi hidrofilik. Alkohol bersifat toksik, terutama pada paparan berulang atau dosis tinggi, karena metabolisme alkohol menghasilkan asetaldehid dan radikal bebas yang dapat merusak sel hepar. Adanya infiltrasi sel radang ditandai dengan berserbukannya sel-sel PMN pada sinusoid menunjukkan proses inflamasi pada hepar. Inflamasi dapat menyebabkan edema jaringan yang berdampak pada peningkatan berat hepar.

Pada kelompok alkohol yang diberi madu tidak menunjukkan adanya steatosis. Hal ini memperlihatkan peran perlindungan madu terhadap akumulasi lipid di dalam sel, yang disebabkan alkohol. Madu mengandung berbagai komponen bioaktif berupa polifenol, asam organik, flavonoid yang menunjukkan aktivitas antioksidan, anti inflamasi dan kemampuan memodulasi metabolisme hepar. Aktivitas antioksidan madu menekan stres oksidatif dan lipid peroksidase yang diinduksi oleh metabolisme alkohol sehingga menghambat lipogenesis hepatik dan mempertahankan homeostasis lipid intrahepatik. Studi yang dilakukan oleh Yi et al., (2023) menggunakan tikus menunjukkan bahwa suplementasi madu dapat mengurangi edema hati, menurunkan enzim hati (ALT/AST), dan mengurangi steatosis pada paparan alkohol.

Meskipun madu mencegah steatosis, paparan alkohol tetap menimbulkan stres seluler yang dapat memicu degenerasi, sehingga masih tampak hidropik dan vakuolasi ringan (Gambar 1). Kehadiran PMN di sekitar sinusoid menunjukkan respon inflamasi sub akut yang memicu aktivasi sel Kupffer dan neutrofil ke parenkim hati. Komponen madu mengurangi besarnya respon inflamasi tetapi tidak sepenuhnya menghilangkannya, sehingga hasil yang terlihat adalah inflamasi ringan-sedang. Kongesti ringan terlihat dari adanya sinusoid yang melebar berisi eritrosit atau sel PMN tampaknya muncul sebagai reaksi vaskular sekunder terhadap inflamasi lokal dan peningkatan permeabilitas vaskular.

D. Penutup

Simpulan

Kesimpulan penelitian ini bahwa semua kelompok percobaan mengalami peningkatan berat badan. Rasio berat hepar terhadap berat tubuh antar ketiga kelompok relatif sama. Madu Tresnojoyo berpotensi memberikan perlindungan terhadap kerusakan hepar akibat paparan alkohol, terutama dalam mencegah terjadinya steatosis dan menurunkan derajat inflamasi serta degenerasi sel. Efek proteksinya tidak sepenuhnya menghilangkan cedera hepatik, sehingga perubahan ringan-sedang masih terlihat.

Saran

Berdasarkan temuan pada penelitian ini, disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk memperpanjang durasi dan menambah level perlakuan. Pemeriksaan dilengkapi dengan pengukuran parameter fungsi hati secara berkala dan pemantauan perkembangan steatosis, inflamasi kronik dan kemungkinan fibrosis pada minggu ke-8.

Daftar Pustaka

- Arumugam, M. K., Chava, S., Perumal, S. K., Paal, M. C., Rasineni, K., Ganesan, M., Jr, T. M. D., Osna, N. A., & Kharbanda, K. K. (2022). Acute ethanol-induced liver injury is prevented by betaine administration. *Frontiers in Physiology, October*, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.940148>
- Ayoub, S., Al-asiri, S. A., & Latief, A. (2017). Role of honey in modern medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(5), 975–978. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.010>
- Duki, M., Kraišnik, N., Aran, B., Manojlovi, A., Divac, A., & Gač, J. (2023). Alcohol , Inflammation , and Microbiota in Alcoholic Liver Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 1–13.
- Genchi, V. A., Cignarelli, A., Sansone, A., Yannas, D., Valentina, L. D., Livraghi, D. R., Spaggiari, G., & Santi, D. (2024). Understanding the Role of Alcohol in Metabolic Dysfunction and Male Infertility. *Metabolites*, 14(626), 1–25.

- Hayatillah, R., Hapsari, W. K., Biologi, P. S., Aceh, B., Biologi, P. S., Biologi, F., & Mada, U. G. (2022). Pengaruh Konsumsi Alkohol terhadap Subkronik Hepar dan Keseimbangan Tubuh pada Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Jeumpa, Jurnal Pendidikan Sains Dan Biologi*, 9(2), 805–814. <https://doi.org/10.33059/jj.v9i2.6553>
- Khasanah, N. A. H., & Husen, F. (2024). Evaluasi Struktur Histologi Hati dan Paru-Paru Mencit yang Diinduksi Karbon Tertrasklorida (CCl₄). *Bioeksakta*, 6(4), 263–270. <https://doi.org/10.20884/1.bioe.2024.6.4.11261>
- Linawati, Y. (2018). Efek Hepatoprotektif Madu Hutan pada Tikus Betina Galur Wistar yang Diinduksi Karbon Tetrasklorida. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, 15(1), 23–28.
- Palma-Morales, M., Jesús R. Huertas, & Celia Rodríguez-Pérez 1, 2, 4. (2023). A Comprehensive Review of the Effect of Honey on Human Health Marta. *Nutrients*, 15, 1–26.
- Pranoto, H., & Nugrahalia, M. (2020). Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Daun dan Buah Kersen (*Muntingia calabura L.*) pada Tikus yang di Induksi Alkohol. *Jurnal Biosains*, 6(2).
- Sánchez, N. M., Brouwer, W. P., Lammert, F., & Yilmaz, Y. (2024). Metabolic dysfunction associated fatty liver disease in healthy weight individuals. *Hepatology International*, 18(s2), 884–896. <https://doi.org/10.1007/s12072-024-10662-w>
- Sijid, S. A., Muthiadin, C., Zulkarnain, Hidayat, A. S., & Amelia, R. R. (2020). Pengaruh Pemberian Tuak terhadap Gambaran Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus*) ICR Jantan. *Jurnal Pendidikan Matematika Dan IPA*, 11(2), 193–205.
- Yi, S., Zhang, G., Liu, M., Yu, W., Cheng, G., Luo, L., & Ning, F. (2023). Citrus Honey Ameliorates Liver Disease and Restores Gut Microbiota in Alcohol – Feeding Mice. *Nutrients*, 15, 1–18.